

## ショウジョウバエ精子形成におけるエクジソンシグナル伝達

緒方 洵・曾根原 哲・横倉 友博・仁木 雄三

### Jun OGATA, Satoshi SONEHARA, Tomohiro YOKOKURA and Yuzo NIKI: Ecdysone Signaling during Spermatogenesis in *Drosophila*\*

Department of Science, Faculty of Science, Ibaraki University, Mito, Ibaraki 310–8512, Japan  
E-mail: yuzoniki@mx.ibaraki.ac.jp(YN)

一般に多細胞生物の形態形成は、外的および内的な生理的環境により調節されている。完全変態をする昆虫では、発生の過程において、体細胞の分裂や分化には、変態ホルモンであるエクジソンが重要な役割を果たしていることが知られている。エクジソンは幼虫の前胸腺で合成されるステロイドホルモンであり、エクジソンの活性型である20-hydroxyecdysone (20E) は脱皮や変態を促進する。20E は細胞内で核内レセプターの Ecdysone Receptor (EcR) と結合する。EcR は単独では機能せず、同様に核内レセプターである Ultraspiracle (USP) とヘテロ二量体を形成して機能する。20E-EcR-USP 複合体は Ecdysone Response Element (EcRE) に結合して下流の遺伝子を活性化させることで、シグナル伝達が起こる (Yao *et al.*, 1992; Thomas *et al.*, 1993; Yao *et al.*, 1993; Antoniewski *et al.*, 1996)。一方、エクジソンが精子形成にも関係しているという報告がある。例えば、トノサマバッタでは精原細胞の増殖 (Dumser, 1980)、カイコでは減数分裂や精子完成に関与している (Takeda, 1972)。しかし、エクジソンが精子形成過程でどのような役割を果たしているかは知られていない。

本研究では、ショウジョウバエ精子形成におけるエクジソンシグナル伝達の働きを明らかにするために以下の実験を行った。免疫抗体染色法により精巣内での20E、EcR、USPの分布及び発現パターンを調べた。その結果、20Eは幼虫及び成虫の精巣の前端部や精母細胞で分布が見られた。また、EcR-Aはシスト前駆細胞、シスト細胞、精母細胞の核に強いシグナルが見られた。一方、USPはハブ細胞、シスト前駆細胞、シスト細胞で強いシグナルが、精母細胞の核では弱いシグナルが見られた。これらの結果から、精母細胞では、EcR-Aとヘテロ二量体を形成する核内レセプターはUSPではないことが示唆される。

次に、これらの遺伝子の役割を調べた。シスト前駆細胞は生殖細胞の分化に重要なシスト細胞を産生するため精子形成には重要であり、そのシスト前駆細胞で発現しているEcR-AとUSPは大きな役割を持つと考

えられる。そこで、シスト前駆細胞で *ecr* と *usp* 遺伝子の発現抑制を行った。その結果、精原細胞数は影響を受けず、精原細胞での分裂頻度が正常よりも高くなった。また、EcR-Aは精母細胞で強く発現していたことから、生殖系列の細胞で重要と考えられる。そこで、精母細胞で *ecr* 遺伝子の発現抑制を行ったが、生殖細胞数は影響を受けなかった。これらの結果は、EcR-AおよびUSPは、シスト細胞や精原細胞・精母細胞の生存よりは分裂頻度の調節に働いている可能性を示唆している。

さらに、エクジソンシグナルにより、活性化される初期遺伝子の発現を調べるため、初期遺伝子の転写に関与している Ecdysone Element 活性を検出できる系統、EcRE-Reporterの発現を調べた。幼虫の精巣から精母細胞を単離して20Eを添加した条件で培養すると、64細胞シストや伸長中の精母細胞の核にEcREが局在することが分かった。このことにより、EcREを持つ遺伝子が精母細胞内で発現し、精母細胞が分化する過程で核内に移動し、下流の遺伝子の発現を調節しているのではないかと考えられる。また、20Eを添加した条件で精母細胞を培養すると、精母細胞の減数分裂や精子形成の進行が促進されたことから、20Eは精母細胞の分化を促進することが示唆される。

今後は、精子形成過程で働くエクジソンシグナル経路の下流で働く遺伝子を同定するとともにその機能を明らかにする予定である。また、精母細胞の分化に20Eがどのように関与しているかを詳細に調べる予定である。

#### 引用文献

- Antoniewski, C., B. Mugat, F. Delbac and J. A. Lepesant (1996) Direct repeats bind the EcR/USP receptor and mediate ecdysteroid responses in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Cell Biology*, **16**, 2977–2986.  
Dumser, J. B. (1980) *In vitro* effects of ecdysterone on the spermatogonial cell cycle in *Locusta*. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, **2**, 165–174.  
Takeda, N. (1972) Effect of ecdysterone on spermatogenesis in the diapausing slug moth pharate pupa, *Monema flavescens*. *Journal of Insect Physiology*, **18** (3), 571–575, 577–580.  
Thomas, H. E., H. G. Stunnenberg, and A. F. Stewart (1993) Heterodimerization

\* Abstract of paper read at the 47th Annual Meeting of the Arthropodan Embryological Society of Japan, June 10–11, 2011 (Biwako, Shiga).

- of the *Drosophila* ecdysone receptor with Retinoid X Receptor and Ultraspiracle. *Nature*, **362**, 471–475.
- Yao, T. P., W. A. Seagraves, A. E. Oro, M. McKeown and R. M. Evans (1992) *Drosophila* ultraspiracle modulates ecdysone receptor function via heterodimer formation. *Cell*, **71**, 63–72.
- Yao, T. P., B. M. Forman, X. Jiang, L. Cherbas, J. D. Chen, M. McKeown, P. Cherbas and R. M. Evans (1993) Functional ecdysone receptor is the product of EcR and Ultraspiracle genes. *Nature*, **366**, 476–479.